Berlin, 1960

Aus der II. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses Berlin-Neukölln
(Dirigierender Arzt: Prof. Dr. med. F. Trautmann)
und dem Medizinaluntersuchungsamt II Berlin-Charlottenburg
(Leiter: Obermedizinalrat Dr. med. B. Henze)

Der Komplementgehalt des menschlichen Serums bei hämolytischen Anämien

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

LANE LIBRARY. STANFORD UNIVERSITY

vorgelegt von
Karl-Hans SCHULZE-FALCK
aus Berlin

Dekan: Professor Dr. med. H. Herken

Referent: Professor Dr. med. F. Trautmann

Korreferent: Professor Dr. med. B. Schmidt

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 1. Juni 1960

A. Einleitung

Im Jahre 1889 konnte Buchner feststellen, daß leukocytenfreies Serum in der Lage ist, eine Reihe von Bakterienarten abzutöten. Diese Wirkung schrieb er einem bestimmten Serumbestandteil zu, den er „Alexin" (Abwehrstoff) nannte.

Während Buchner zunächst glaubte, daß das Alexin eine einheitliche Substanz sei, die für sich allein in der Lage wäre, Bakterien oder Zellen aufzulösen, gelang es Bordet sowie Ehrlich und Morgenroth nachzuweisen, daß das Alexin ein aus zwei Bestandteilen zusammengesetzter Stoff ist. Nach Ehrlich besteht das Alexin aus einem, entweder natürlich vorkommenden oder durch Immunisierung erzeugten Zwischenkörper (Amboceptor, Immunkörper) und einem, in fast jedem Serum vorkommenden zweiten Stoff, dem Komplement.

Während heute die Bezeichnung Alexin und Komplement gleichgesetzt werden, war dies ursprünglich nicht der Fall. Buchner verstand noch unter dem Alexin den Komplex Amboceptor plus Komplement.

Ehrlich konnte weiter feststellen, daß Zellen, die mit einem Zwischenkörper beladen sind, durch Hinzutritt von Komplement geschädigt bzw. aufgelöst werden können. Dabei soll der Zwischenkörper zum zellschädigenden Wirkstoff komplettiert werden. Über die Art der Wirkung sagte Ehrlich aus, daß zunächst der Zwischenkörper an die Zellen herantritt, und zwar soll eine Verankerung an einer bestimmten, diesem Zweck dienenden Gruppe vonstatten gehen. An einer anderen Gruppe des Amboceptors wird dann das Komplement angelagert; der auf diese Weise vervollständigte Gesamtkomplex soll dann die Schädigung der Zelle bewirken.

Bordet, der zeigte, daß die Vorgänge bei der Auflösung von Bakterien, denen bei der spezifischen Auflösung von Erythrocyten entsprechen, vertrat dagegen die Ansicht, daß der Zwischenkörper an die betreffenden Zellen herantrete und diese „sensibilisiere", daß das Komplement dann aber direkt an den Zellen angreife und sie auflöse.

Gruber gab sogar an, daß für bestimmte Blutarten überhaupt keine Zwischenkörper zur Lyse benötigt würden.

In zahlreichen Versuchen konnte Ehrlich jedoch nachweisen, daß isoliertes Komplement nicht an Zellen verankert werden kann und daß die von ihm vertretene Anschauung des Zusammenwirkens von Amboceptor und Komplement richtig sei. Die Auffassung von Ehrlich ist in der Folgezeit auch von anderen Autoren bestätigt worden, so z. B. von Buchner; v. Dungern; Neisser; Neisser u. Doehring; Neisser u. Wechsberg; sie kann heute als allgemein anerkannt gelten. Von besonderer Wichtigkeit für die weiteren Untersuchungen war es dabei, daß Ehrlich aufzeigen konnte, daß sich der Vorgang der spezifischen Lyse als eine besondere Reaktionsform in die von ihm ausgearbeitete Seitenkettentheorie einreihen ließ.

Diese Seitenkettentheorie ist in der Folgezeit oftmals angegriffen worden. Buchner hielt z. B. das Vorhandensein von präformierten Rezeptoren an den Körperzellen für

unwahrscheinlich und Kiss glaubte, daß die Annahme einer von Ehrlich vermuteten chemischen Bindung zwischen Komplement und Amboceptor, die auch bis heute nicht nachgewiesen werden konnte, nicht zu recht bestehe. Gegen die von Ehrlich vertretene Ansicht der Vielzahl von Komplement, Antikörpern und Receptoren wandten sich vor allem Bordet; Buchner und Gruber. Trotzdem besitzt die Seitenkettentheorie als Arbeitshypothese auch heute noch ihren Wert.

Neisser u. Doehring waren es dann, die als erste zeigen konnten, daß die bislang meist an Versuchstieren ermittelten Befunde auch für menschliche Seren Gültigkeit besitzen. Das Komplement ist ein thermolabiler Serumfaktor, d. h. man kann das Komplement durch halbstündiges Erhitzen von Serum auf 56° in diesem zerstören. Schon von Buchner ist es deshalb und wegen seiner Wirkung als ein proteolytisches Enzym angesehen worden, dieser Anschauung schloß sich später auch Kiss an, der Untersuchungen über die Fermentnatur des Komplementes ausführte. Während man ursprünglich das Komplement bei Untersuchungen mit Bakterien entdeckt hatte, verwendete man diese sehr bald nicht mehr für Komplementuntersuchungen, besonders nachdem Bordet nachgewiesen hatte, daß die Gesetze, die für die Bakteriolyse gelten, auch für die spezifischen Auflösungserscheinungen von Erythrocyten verbindlich sind. Die weiteren Versuche wurden unter Verwendung von roten Blutkörperchen durchgeführt. Dieses Verfahren ist vorteilhafter, weil die Gewinnung von Erythrocyten leicht ist und die Vorgänge der Zellauflösung an diesen einfach zu beobachten und zu registrieren sind.

Es gelang in der Folgezeit, das Komplement zunächst in zwei Bruchstücke zu zerlegen, von denen keines für sich allein in der Lage war, eine Hämolyse sensibilisierter Blutzellen zu Wege zu bringen. Es ließ sich nachweisen, daß das eine Bruchstück im wesentlichen aus einer Globulinfraktion bestand, das andere dagegen aus einer Albuminfraktion. Bei der Rekombination mußte auf die sensibilisierten Zellen zunächst der Globulinanteil einwirken, ehe die Albuminfraktion wirksam werden konnte. Aus diesem Grunde wurde der Globulinanteil als „Mittelstück" und der Albuminanteil als „Endstück" bezeichnet.

Nach späteren Analysen hat es sich gezeigt, daß das Komplement sich noch in weitere Komponenten zerlegen läßt, und zwar besteht es mindestens aus 4 Teilstücken, die nach einem Vorschlag von Heidelberger mit C'1—C'4 bezeichnet werden.

Von diesen Komponenten sind C'1 und C'2 thermolabil, C'3 und C'4 dagegen thermostabil. Ferner konnte festgestellt werden, daß das Komplement nur in Gegenwart von Magnesium-Ionen funktionsfähig ist. In jüngster Zeit konnte ein weiterer Serumbestandteil, das Properdin, entdeckt werden, das offensichtlich ebenfalls zur Verankerung bzw. zum Wirksamwerden des Komplementes an den anzugreifenden Stellen notwendig ist. Über das genaue Zusammenspiel der einzelnen, bis heute bekannten Bestandteile herrscht noch keine absolute Klarheit.

Die Funktion des Komplementes geht meist verloren, wenn eine Komponente des Komplementkomplexes zerstört wird. Die Auftrennung der Komponenten hat ergeben, daß C'1 ein Euglobulin ist, während C'3 wahrscheinlich den Phospholipoiden zugerechnet werden muß. Die zweite und vierte Komponente ist im Serum als Mucoeuglobulin vorhanden, wobei man aller Wahrscheinlichkeit nach annehmen darf, daß C'4 im Kohlehydrat dieses Globulins, das sich elektrophoretisch als alpha-Globulin erweist, enthalten ist.
Über die Bildungsstätte des Komplementes ist bis heute nichts Sicheres bekannt. Buchner nahm an, daß es von Leukocyten gebildet wird. Auch Mandelbaum vermutete, daß das Komplement in enger Beziehung zu den Leukocyten steht, denn ihm gelang der Nachweis eines von ihm als „Socin" bezeichneten Stoffes, der das Komplement stabilisiert und nur in Gegenwart von Leukocyten nachweisbar war. Moxter bezweifelt, daß Komplement von Leukocyten gebildet wird, und Heim vermutet die Bildungsstätte in den blutbildenden Organen. Während Morrison glaubt, daß das Komplement weder in weißen noch in roten Blutzellen gebildet wird, spricht die Tatsache, daß der Komplementgehalt bei myeloischen Leukämien vermehrt sein soll (n. Schmidt) doch für die Möglichkeit, daß das Komplement von Leukocyten gebildet sein könnte. Aus dem Schwund des Komplementes nach geringen Röntgen- und Radiumbestrahlungen, eine Tatsache, die im Atomzeitalter wieder mehr beachtet werden sollte, kann man entnehmen, daß das Komplement offensichtlich von radiosensiblen Zellen gebildet wird; eine direkte Zerstörung des Komplementes im Serum durch Röntgenstrahlen findet nämlich in vitro nicht statt. Die Verminderung des Komplementes nach Behandlung der Versuchstiere mit Phosphor (Ehrlich u. Morgenroth) deutet neben der Bildung in Knochenmarkszellen auch auf die Leber als möglichen Entstehungsort hin. Der hepatische Ursprung des Komplementes ist besonders nach den Arbeiten von Ecker, Pillemer, Jones u. Seifter diskutiert worden. Des weiteren ist der Entstehungsort auch noch im retikulohistiocytärem System, in der Milz sowie in den Endothelien der peripheren Gefäße vermutet worden. Wenn über den Entstehungsort des Komplementes keine einheitliche Meinung besteht, so muß man berücksichtigen, daß das Komplement aus mehreren Fraktionen besteht, die natürlich in verschiedenen Zellformen gebildet werden können, ehe sie sich zu einem „Komplex" vereinigen. Eine Schädigung, die nur eine Zellform betrifft, würde sich dann letztlich auf die gesamte Komplementaktivität auswirken. Die Lebensdauer des Komplementes beträgt ca. 4 Wochen (Schönheimer, Ratner u. Rittenberg), es unterliegt einem dauernden Verbrauch und Ersatz. Nach Entfernung von Komplement aus dem Körper durch Blutentzug und Ergänzung durch indifferente Flüssigkeiten ersetzt es sich schnell, etwa innerhalb von 24 Std. (Coca; Ecker u. Reese; Wassermann). Nach Huntemüller ist der Entzug kleiner Blutmengen geradezu als Reiz für eine vermehrte Komplementausschüttung anzusehen.
Das Funktionsoptimum des Komplementes befindet sich innerhalb der physiologischen pH-Schwankungsbreite des

Serums (Weiss, Sümegi u. Bonkovics; Rockwood; Sachs), außerhalb eines bestimmten pH-Bereiches wird seine Wirkung, vermutlich durch Inaktivierung der gegenüber pH-Verschiebungen sehr empfindlichen Komponente C'3, aufgehoben.

B. Das Komplement im menschlichen Serum

Jedes von einem gesunden Menschen stammende Serum enthält Komplement. Zu den Angaben über den Komplementtiter ist zu sagen, daß diese durch die oft unterschiedliche Nachweistechnik variieren können. Seren, die längere Zeit nach der Entnahme geprüft werden, weisen einen Komplementschwund auf, lange Lagerung von Seren läßt in diesen eine antikomplementäre Wirkung entstehen (Mandelbaum). Der Komplementgehalt des Serums wird von Mandelbaum mit 0,0078 ml (beginnende Hämolyse) bis 0,06 ml (komplette Hämolyse) angegeben. Dieser Autor stellt ebenso wie viele andere fest, daß der Komplementtiter außerordentlich konstant ist. Nach Arbeiten von Bauer u. Weiss sowie Traub soll der Komplementgehalt beim gesunden Menschen 3—5mal geringer sein als beim Meerschweinchen. Demnach läge der Titer zwischen 0,03 bis 0,05 ml Serum, was sich mit den Angaben von Mandelbaum weitgehend decken würde.
Der Gehalt des menschlichen Serums ist oft als Maßstab für die allgemeine Abwehrlage des Körpers herangezogen worden (Huntemüller). Durch Sport soll der Titer erhöht werden, Hochleistungssport senkt ihn dagegen. Auch ultraviolettes Licht soll eine Steigerung des Komplementgehaltes im Blut bewirken.
Während das mütterliche Plazentarblut einen normalen Komplementgehalt aufweist, soll Nabelschnurblut und Blut von Neugeborenen komplementlos sein. Nachprüfungen in jüngster Zeit (Gernand u. Schabinski) ergaben, daß sich im Nabelschnurblut zwar Komplement nachweisen ließ, jedoch in wesentlich geringeren Mengen (0,14—0,18 ml) als beim Erwachsenen. Die gleichen Autoren fanden den Komplementgehalt bei Personen erniedrigt, bei denen es zu einer Störung der Darmflora, insbesondere der Colibakterien gekommen war (z. B. unter antibiotischer Therapie). Sie führten diesen Komplementschwund ebenso wie Büsing u. Zuzak auf eine Störung des Vitamin-K-Spiegels im Körper zurück, da eine exogene Vitamin-K-Zufuhr den Komplementabfall weitgehend verhindern konnte. Während Perlick u. Goetze diese Befunde nicht bestätigen konnten, herrscht Übereinstimmung darüber, daß der Komplementspiegel durch Vitamin C stabilisiert wird.

C. Das Komplement bei Erkrankungen

Burbanks u. Hadjopoulos sowie Schuchardt fanden bei Infektionskrankheiten keine wesentlich anderen Komplementverhältnisse wie bei gesunden Personen. Moro

u. Potpeschnigg beschrieben jedoch eine Erhöhung des hämolytischen Komplementes bei Typhus, Pneumonie und Tuberkulose. Sie fanden aber auch bei diesen Krankheiten Komplementerniedrigungen, die sie für den Verlauf als prognostisch ungünstig ansahen. Auch Hoene und Sabel sahen bei tuberkulösen Kranken sowohl erhöhte, als erniedrigte Komplementwerte, letztere besonders bei schweren hämatogenen Tuberkuloseformen, sowie bei Komplikationen mit Leberparenchymschäden. Verminderungen des Komplementgehalts wurden von Kraulis bei der Paralyse gefunden, auch bei Nephritis wurde eine Erniedrigung beschrieben. Kellet, Thomsen u. Greig; Thomson, Arnott u. Metthew; Schnabel; Veil sowie Veil u. Buchholz fanden Komplementverminderungen bei Röntgenbestrahlungen. Veil u. Buchholz beschrieben auch eine Komplementverminderung bei der akuten Polyarthritis, bei der rheumatischen Endocarditis und bei der akuten Glomerulonephritis. Komplementvermehrung wurde bei der Leukämie gefunden. Perlick u. Tost fanden eine Erhöhung des Komplementgehaltes bei der Endangiitis obliterans sowie bei Pat. mit Arteriosklerose, auch bei Milzbrand wurde von Trommsdorf ein vermehrter Komplementgehalt beschrieben. Mandelbaum fand bei Gesunden sowie bei verschiedenen Erkrankungen stets einen gleich hohen Komplementgehalt, während Huntemüller den Komplementtiter bei florider Tuberkulose und bei Carcinomkranken erniedrigt fand. Bauer u. Weiss; Goldner; Jordan; Hench; Hennemann u. Schulze, sowie Bergel u. Schüle fanden bei Erkrankungen an Icterus catarrhalis sowie bei akuter und subakuter Leberatrophie und Leberparenchymschäden einen erniedrigten Komplementgehalt. Bei den schweren degenerativen Leberleiden wird die Verringerung des Serumkomplementes dem Auftreten der Dysproteinämie zugeschrieben. Friedberger u. Hartoch sowie Doerr geben an, daß beim anaphylaktischen Schock der Komplementgehalt während der Anaphylaxieperiode deutlich herabgesetzt sei.

D. Fragestellung

Die Verminderung des Komplementes bei den verschiedenen aufgeführten Krankheiten kann mehrere Ursachen haben. Abgesehen davon, daß eine gleichzeitige Schädigung der Komplementbildungsstätten vorliegen kann, die zu einer Erniedrigung des Komplementtiters im Serum führen würde, ist es auch denkbar, daß das Komplement im Organismus beim Ablauf von Antigen-Antikörper-Reaktionen verbraucht wird. Das würde bedeuten, daß es bei einer ganzen Anzahl von Krankheiten zum Auftreten von Antikörpern und zum Ablauf von Antigen-Antikörper-Reaktionen kommen müßte. Das Auftreten von spezifischen Antikörpern ist in der Tat eine charakteristische Begleiterscheinung von Infektionskrankheiten. Aber auch bei einer Reihe anderer Krank-

heitsgruppen, insbesondere bei Erkrankungen des lymphatischen Systems, des retikulo-histiocytären Systems, bei Erkrankungen, die von einer Dysproteinämie begleitet sind und bei Viruserkrankungen sowie einigen bakteriellen Infektionen (Hennemann) ist das Auftreten von Antikörpern beschrieben worden. Hierbei handelt es sich in der Hauptsache um sogenannte Auto-Antikörper, d. h. um Antikörper, die vom Organismus selbst gebildet werden und die gegen bestimmte körpereigene Zellen oder körpereigene Substanzen gerichtet sind.

In jüngster Zeit ist auch bei den hämolytischen Anämien in steigendem Maß das Vorhandensein von Auto-Antikörpern nachgewiesen worden und sie haben zur Aufklärung des pathogenetischen Geschehens bei diesen Erkrankungen wesentlich beigetragen. Besonders handelt es sich hierbei um inkomplette Auto-Antikörper, d. h. um Antikörper, die zur Ausbildung ihrer vollen Funktion noch einen weiteren (Serum-)faktor benötigen. Ihr Nachweis gelingt nicht im Kochsalzmilieu, sondern nur unter Zuhilfenahme von Supplementen (z. B. Serum, Rinderalbumin, Gelatinelösung, Dextran oder Kollidon) oder mit Hilfe des Race-Coombs-Testes (Hennemann u. Gillert; Rosenfield, Vogel u. Rosenthal). Es ist nun theoretisch möglich, daß alle Antikörper in einer kompletten wie auch in einer inkompletten Form vorkommen können (Dacie). Für die erworbenen, idiopathischen hämolytischen Anämien sind besonders diejenigen inkompletten Antikörper von Bedeutung, die ihre Wirkung bei Körpertemperatur entfalten (inkomplette Wärmeantikörper), während sich bei den erworbenen symptomatischen hämolytischen Anämien daneben inkomplette Kälteantikörper, die bei niedrigen Temperaturen aktiv sind, finden (Dacie). Den ersten Nachweis eines inkompletten Wärmeantikörpers bei chronischen, erworbenen hämolytischen Anämien führten Boorman, Dodd u. Loutit sowie Loutit u. Mollison.

Bei den hämolytischen Anämien unterscheidet man heute die kongenitalen und die erworbenen Formen. Während es ziemlich sicher ist, daß bei den angeborenen Formen ein Defekt an den Erythrocyten vorliegt, werden als erworben alle diejenigen Formen der hämolytischen Anämien bezeichnet, bei denen ein gesteigerter (intravasaler) Blutuntergang das klinische Bild beherrscht, bei denen aber konstitutionelle Faktoren mit Sicherheit ausgeschlossen werden können. Als typische Untersuchungsbefunde zeigen sie neben der Anämie eine Vermehrung des indirekten Bilirubins im Serum, verstärkte Ausscheidung von Urobilinkörpern im Harn und Stuhl, wobei es auffällig ist, daß trotz des erhöhten Serumbilirubins kein Bilirubin im Harn ausgeschieden wird. Das Knochenmark bietet das Bild einer stark gesteigerten Erythropoese, im peripheren Blut sind die Retikulocyten stark vermehrt, die Milz ist vergrößert. Die er-

worbenen hämolytischen Anämien werden weiter in die symptomatischen hämolytischen Anämien und in die idiopathischen hämolytischen Anämien unterteilt. Die symptomatischen Formen treten besonders im Verlauf der schon vorher besprochenen Krankheitsgruppen sowie nach Intoxikation mit bestimmten Arzneimitteln auf. Nach Ausheilung der Grundkrankheit kommen die ausgebildeten hämolytischen Symptome wieder zum Verschwinden.
Bei den idiopathischen hämolytischen Anämien läßt sich kein auslösender Faktor und keine Beziehung zu einem anderen Grundleiden eruieren. Es war die Aufgabe dieser Arbeit, zu untersuchen, ob bei den hämolytischen Anämien Antigen-Antikörper-Reaktionen ablaufen, die mit einem Verbrauch von Komplement einhergehen und so eine Aussage über die Art der vorliegenden Antikörper zulassen. Während z. B. nach den Angaben von Dacie u. a. zur Bindung von inkompletten Kälte-(häm-)agglutininen Komplement benötigt werden soll, ist die Mitwirkung von Komplement bei der Bindung von inkompletten Wärme-(häm-)agglutininen ebenfalls vermutet worden (Dacie u. de Gruchy u.-a.). Aus diesem Grunde wurden bei Patienten, die an hämolytischer Anämie erkrankt waren, die Komplementtiter bestimmt, um dadurch Aufschluß über das Verhalten von Komplement bei Anwesenheit von inkompletten Wärmeautoantikörpern zu gewinnen.

E. Methodik

Dem Gehalt des menschlichen Serums an Komplement ist früher eine wesentlich größere Bedeutung zugemessen worden als heute. Infolgedessen hatte man sich auch schon frühzeitig bemüht, den Komplementtiter exakt zu bestimmen. Die meisten der früher beschriebenen Methoden führten zu ungenauen Ergebnissen, weil dabei z. T. mit Bakterien gearbeitet wurde, die keine reproduzierbaren Werte ergaben, da im Serum oft spezifische Antikörper in wechselnden Mengen vorhanden sind und sich die unterschiedliche Virulenz der Bakterienstämme störend auswirkt.
Auch die Untersucher, die ein hämolytisches System zur Titerbestimmung benutzten, kamen in ihren Befunden zu Ungenauigkeiten, da z. B. die Hammelblutkörperchenaufschwemmungen zu stark waren — hämolytisches Blut wirkt antikomplementär — oder die Resistenz der Erythrocyten unberücksichtigt blieb, in den Versuchen keine Kontrollen mitliefen, dem Titer des verwendeten hämolytischen Amboceptors nicht genügend Beachtung geschenkt wurde, die optimale Ablesezeit nicht ermittelt wurde oder das Vorhandensein von Normalhämolysinen vernachlässigt wurde.
Ganz allgemein gelten heute für die Komplementtitrierung folgende Grundsätze:
1. Die Methodik muß auch geringste Mengen von Komplement nachweisbar machen;
2. Die verwendeten Reagenzien (Hammelblutkörperchen, Amboceptor, Verdünnungsflüssigkeiten und komplementhaltiges Serum) müssen genau definiert und eingestellt sein;

3. Der Komplementtiter muß so klar erläutert sein, daß er als Vergleichsbasis für ähnliche Versuche dienen kann;

4. Die Beschreibung der Methodik muß mit größtmöglicher Genauigkeit vorgenommen werden.

Die eigene Methodik wurde durch Modifizierung der Methoden von Hoene u. Sabel und von Perlick u. Tost erarbeitet.

a) Komplement: Von den zu untersuchenden Patienten wurden 10 ml Blut durch Venenpunktion entnommen. Das Blut wurde 30 Minuten bei Zimmertemperatur belassen, der Blutkuchen vom Röhrchen abgelöst und nach zweistündigem Aufenthalt bei + 4° durch Zentrifugieren vom Serum getrennt. Das Serum wurde sofort verarbeitet. Vor der Titrierung wurden aus dem Serum die Normalhämolysine gegen Hammelblutkörperchen in Anlehnung an die Angaben von v. Dungern u. Coca entfernt: 2 ml Serum wurden mit 4 ml einer Calciumchloridlösung (2,535 g $CaCl_2 \cdot 6\ H_2O$, Aqua dest. ad 100,0) versetzt. Anschließend wurde 0,5 ml Hammelblutkörperchensediment hinzugegeben. Das Röhrchen wurde gut umgeschüttelt und 1 Stunde bei 37° in ein Wasserbad gestellt. Dann wurde das Röhrchen 15 Minuten bei 3000 U/Min. zentrifugiert, wodurch die mit Normalhämolysin beladenen Hammelblutkörperchen niedergeschlagen wurden. Das überstehende Serum-Calciumchloridgemisch wurde vorsichtig abpipettiert und zur Ausfällung des Calciums mit einer Natriumoxalatlösung (1,55 g Natriumoxalat, Aqua dest. ad 100,0) versetzt. Das Röhrchen wurde umgeschüttelt und 15 Minuten stehen gelassen, das gebildete Calciumoxalat wurde durch Zentrifugieren (15 000 U/Min.) ausgeschleudert. Dieses Serum ist durch die Zugabe der Salzlösungen im Verhältnis 1 : 5 verdünnt. Es wurde durch Zugabe des gleichen Volumens physiologischer Kochsalzlösung auf das Verhältnis 1 : 10 verdünnt und so zur Komplementtitrierung angesetzt.

b) Hammelblutkörperchen: Das Hammelblut wurde entweder frisch entnommen und durch Schütteln defibriniert, oder aber es wurde konserviertes Hammelblut, das in Alsever-Lösung aufbewahrt wurde, verwendet. Die Hammelblutkörperchen wurden dreimal in physiologischer Kochsalzlösung gewaschen. Um eine größere Konzentration an Erythrozyten wegen der antikomplementären Wirkung des Hämolysats zu vermeiden, wurde die Menge der verwendeten Hammelblutkörperchen stark herabgesetzt. Die Einstellung der Erythrozytensuspension und die Ablesung der Versuchsergebnisse wurde, da eine rein optische Ablesung der Reaktion unmöglich war, mit Hilfe eines Elektrokolorimeters mit Fotozellenanordnung unter Verwendung von Metallinterferenzfiltern (Zeiss) in einem Absorptionsmaximum des Oxyhämoglobins bei 540 mmy vorgenommen. Die Einstellung geschah folgendermaßen: zu 33,0 ml physiologischer Kochsalzlösung wurden 0,25 ml Hammelblutkörperchensediment zugegeben. Dieses Gemisch wurde gut durchgeschüttelt, daraus 1 ml entnommen und mit 8,0 ml Aqua dest. hämolysiert. Dann wurde 1,0 ml einer 1%igen Natriumcarbonatlösung, die die zur Erhaltung des Oxyhämoglobins notwendige schwach alkalische Reaktion liefert, zugefügt. In einer Küvette von 20 mm Schichtdicke wurde anschließend der Extinktionswert

$(\log \frac{I_0}{I})$ elektrophotometrisch gemessen. Der gefundene Wert des auf diese Weise im Verhältnis 1 : 1333 verdünnten Hammelblutkörperchensedimentes lag in der Regel etwas oberhalb von 0,40 (0,40 wurde als Bezugspunkt festgesetzt). Da für Extinktionsmessungen des Oxyhämoglobins das Beer'sche Gesetz Gültigkeit hat, läßt sich das Verhältnis der Oxyhämoglobinkonzentration zur Lichtdurchlässigkeit durch die Formel: $E = 100 \cdot e^{-ax}$ wiedergeben. Auf einer semilogarithmisch aufgetragenen Eichkurve liegen die Extinktionswerte für die Hämoglobinkonzentrationen daher auf einer Geraden. Infolgedessen läßt sich auch bei Abweichung des gefundenen Extinktionswertes von dem Bezugswert die Korrektur formelmäßig berechnen, was bei fast allen Einstellungen notwendig ist.

c) Ambozeptor: Es wurde käufliches Antihammelblut-Kaninchenserum der Behringwerke mit einem geprüften Titer von 1 : 8000 verwendet.

d) Verdünnungsflüssigkeit: Sterile 0,85%ige (physiologische) Kochsalzlösung.

e) Versuchsanordnung:

I. Einstellung des Ambozeptors (Vorversuch).

Für jedes Serum wurde eine Reihe von 8 Röhrchen aufgestellt, dazu für jedes Serum noch drei Kontrollröhrchen:

Ambozeptorkontrolle: 0,5 ml Amboc. 1 : 100 + 1,5 ml NaCl + 0,5 ml Hammelblutkörperchenlösung.

Komplementkontrolle: 1,0 ml Komplement (menschl. Serum) 1 : 10 + 1,0 ml NaCl + 0,5 ml Hammelblutkörperchenlösung.

Hammelblutkontrolle: 2,0 ml NaCl + 0,5 ml Hammelblutkörperchenlösung.

Die Kontrollröhrchen durften keine Hämolyse aufweisen, das zweite Kontrollröhrchen diente außerdem zur Erkennung evtl. noch vorhandenen Normalhämolysins.

In alle Röhrchen der Versuchsreihe kamen 0,5 ml (physiol.) NaCl-Lsg. In das erste Röhrchen wurde 0,5 ml des 1 : 100 verdünnten Amboceptors einpipettiert, von diesem wurde nach Mischung 0,5 ml in das nächste Röhrchen überpipettiert, erneut gemischt und in der gleichen Weise bis zum letzten Röhrchen weiterpipettiert. So entstanden Amboceptorverdünnungen von 1 : 200 bis 1 : 25 600, dann wurden in alle Röhrchen der Versuchsreihe 0,5 ml NaCl-Lsg. gegeben, darauf in diese Röhrchen je 1,0 ml Patientenserum einpipettiert. Anschließend wurde in die Röhrchen je 0,5 ml der photometrisch eingestellten Hammelblutkörperchenaufschwemmung gefüllt. Die Ablesung erfolgte nach 30 Minuten langem Stehen im Wasserbad von 37°. Es wurde die kleinste, noch völlig lösende Amboceptormenge ermittelt, von dieser wurde die vierfache Menge für den Hauptversuch verwendet (= Amboceptor-Gebrauchslösung). Kam infolge von Komplementmangel des Patientenserums im Vorversuch keine völlige Lyse zustande, so wurde der Hauptversuch mit einer Amboceptorverdünnung von 1 : 100 angesetzt.

II. Hauptversuch zur Komplementtitrierung.

Die Amboceptorgebrauchsdosis wurde aus der 1 : 100 verdünnten Amboceptorlösung hergestellt. Für das zu untersuchende Serum wurde eine Reihe von 16 Röhrchen aufgestellt. Das erste Röhrchen erhielt kein Serum, in die folgenden wurde das 1 : 10 verdünnte Patientenserum in um 0,1 ml steigenden Mengen einpipettiert. Alle Röhrchen wurden mit physiol. NaCl-Lsg. auf 1,5 ml Inhalt aufgefüllt. Dann wurde in alle Röhrchen 1,0 ml vorher hergestellten Amboceptor-Hammelblutkörperchengemisches (1+1), das zur Bindung 60 Min. bei 37° im Wasserbad inkubiert wurde, zugegeben. Die Röhrchen wurden gut durchgeschüttelt und kamen für 2 Std. bei 37° in ein Wasserbad. Diese Einwirkungszeit ist experimentell als optimal ermittelt worden. Danach wurden die Röhrchen zentrifugiert und der Inhalt in je 2,5 ml einer 0,2%igen Sodalösung übergossen. Dadurch wurde das gleiche Konzentrationsverhältnis wie in der photometrisch eingestellten Hammelblutkörperchenlösung hergestellt. Die Extinktionswerte dieser Lösungen wurden im Photometer gemessen und die Kurven zeichnerisch niedergelegt. So wurde es möglich einen subjektiven Fehler bei der Ablesung auszuschließen.

f) Komplementtiter: Die Menge Patientenserum in ml, die in der Lage war 50% der in der Reaktion befindlichen Hammelblutkörperchen zu hämolysieren, wurde als Komplementtiter angegeben.

g) Absorptionsvorgang: Der Einfluß der Absorption auf den Komplementtiter wurde in einer gesonderten Versuchsreihe an Meerschweichenserum geprüft. Beim Vergleich der erhaltenen Kurven zeigte es sich, daß Serum, an dem eine Adsorption vorgenommen wurde, eine etwas geringere Hämolyse aufwies als unbehandeltes Serum. Peinlich genau hergestellte Lösungen und sorgfältigstes Pipettieren sind die Voraussetzung für einwandfreie Ergebnisse!

F. Versuche und Versuchsergebnisse*)

a) Normalseren: Mit der angegebenen Methode wurde durch Untersuchung der Seren von über 50 gesunden Versuchspersonen die im Serum normalerweise vorhandene Komplementmenge bestimmt. Durch die Feststellung dieser Normalwerte sollten die eigenen Versuchsergebnisse mit den entsprechenden Angaben in der Literatur vergleichbar werden. Ferner sollte dadurch ein Index für eine evtl. vorliegende Komplementverminderung oder -vermehrung geschaffen werden.

Ergebnis: Bei allen 50 untersuchten Seren war die Komplementmenge, die die im Ansatz vorhandenen Hammelblutkörperchen zu 50% hämolysiert, in 0,020 bis 0,035 ml. Serum vorhanden (s. a. Abb. 1).

*) Den wesentlichen Teil der experimentellen Versuche und die Erstellung der Komplementkurven der Patienten habe ich während meiner Tätigkeit als Assistenzarzt an der I. Medizinischen Klinik der Charité (ehem. kommiss. Direktor: Prof. Dr. H. H. Hennemann) in den Laboratorien dieser Klinik ausgeführt.

T. H. 12. 5. 55
Stat. E Zust. nach sept. Pancardiis

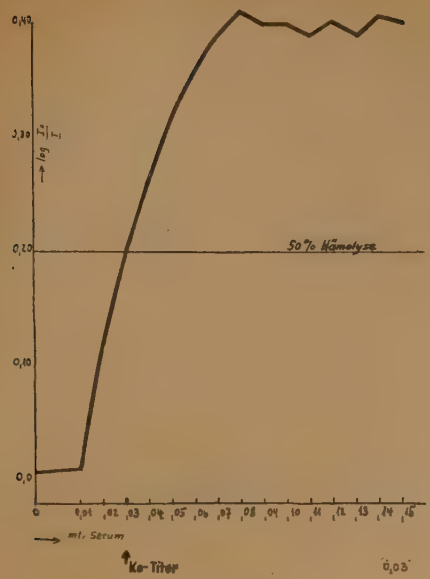

Abb. 1

b) Seren von Patienten mit Hyperbilirubinämien: Da der Gehalt des Serums an Bilirubin bei den an hämolytischer Anämie Erkrankten meist ein vielfaches der Bilirubinmenge beträgt, die sich bei Gesunden nachweisen läßt, mußte ausgeschlossen werden, daß eine Veränderung des Komplementgehaltes eventuell durch das vermehrte Bilirubin verursacht sein könnte. Die Personengruppe, die daraufhin untersucht wurde, setzte sich aus Patienten, die an einer Hepatitis epidemica erkrankt waren, zusammen.

Ergebnis: Ein erhöhter Bilirubingehalt des Serums bedingt keine Veränderung der nachweisbaren Komplementmenge (s. a. Abb. 2).

c) Seren von Patienten mit Anämien: Um die Möglichkeit auszuschließen, daß das Vorliegen einer Anämie an sich bereits auch eine Beeinträchtigung der nachweisbaren Komplementmenge bewirkt haben könnte, wurde eine dritte Personengruppe untersucht, die sich aus Patienten mit Eisenmangelanämien zusammensetzte.

Ergebnis: Ein Einfluß auf die nachweisbare Komplementmenge durch das Bestehen einer Anämie war in keinem Falle zu finden. Die Komplementmenge lag stets im Bereich der Norm (s. a. Abb. 3).

E. L. 3. 1. 56
Stat. E Hepatitis epidemica

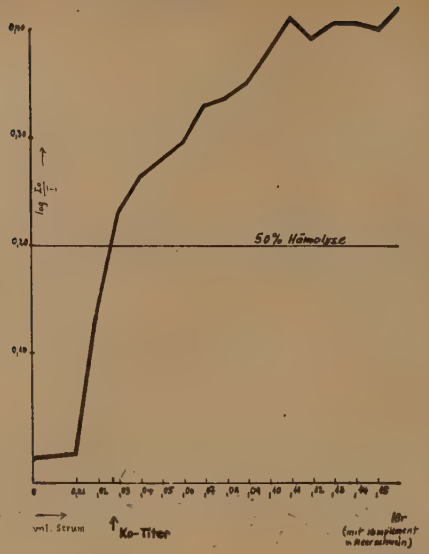

Abb. 2

H. J. 17. 2. 56
Stat. E Blutungsanämie bei Morbus Osler

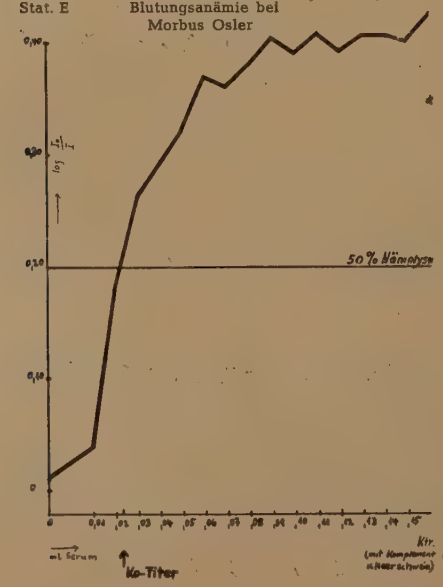

Abb. 3

d) Versuche mit Seren von Patienten mit hämolytischer Anämie

Angeborene Formen

1. Pat. D. E., 37 J.

Anamn.: Schon als Schulkind auffallende Blässe, mit 31 J. erstmalig Ikterus. Zweiter Schub mit 35 J.

Status: Starker Ikterus, Milz palpabel, Leber 1—2 Querfinger verbreitert, sonst o. B.

Diagn.: angeborene, mikrocytäre hämolytische Anämie.

Befunde: Hämoglobin 58%; Erythrocyten 2,21 Mill.; Färbeindex 1,3; Retikulocyten 466‰; mittlerer Erythrocytendurchmesser: 6,331 my (Mikrocytose); BSR: 35/86; Bilirubin im Serum: 6,85 mg%, direkt negativ.

Urin: Urobilinogen schwach vermehrt, Urobilin und Bilirubin negativ.

Röntgenuntersuchung: Skelettknochen unauffällig, keine Osteoporose, keine Verminderung der Corticalis, Schädelknochen normal angelegt.

Serologisch: Coombs-Test, Kälte- und Autoagglutination: negativ.

Therapie: in Anbetracht der Art des Leidens wurde keine medikamentöse Therapie durchgeführt.

Komplementtiter: in 0,15 ml Serum kein Komplement nachweisbar (Abb. 4) am 3. 4. 55.

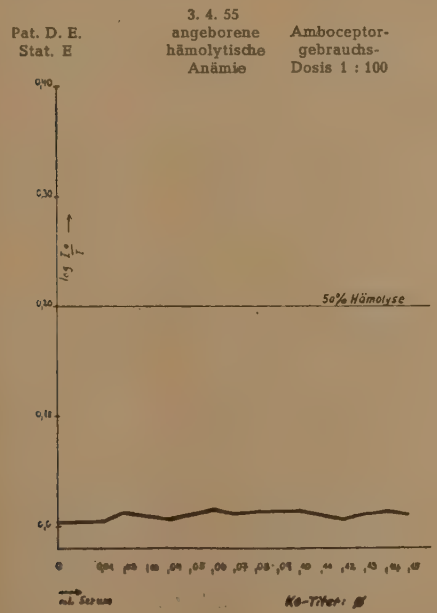

Abb. 4

Weiterer Verlauf: Am 4. 4. erfolgte die Exstirpation der Milz. Danach wesentliche Besserung des klinischen Bildes, jedoch kein völliger Rückgang der Erscheinungen.
Befunde am 27. 4.: Hb.: 76%; Erythrocyten: 3,70 Mill.; F. I. 1,0; Retikulocyten: 39‰; Bilirubin i. S.: 1,05 mg%; Komplementtiter: 0,13 ml.
25. 5.: Hb.: 76%; Erythrocyten: 3,65 Mill.; F. I. 1,0; Retikulocyten 51‰; Bilirubin i. S.: 1,94 mg%; Komplementtiter: 0,075 ml.
28. 10.: Hb.: 78%; Erythrocyten: 3,50 Mill.; F. I. 1,1; Retikulocyten: 211‰; Bilirubin i. S.: 2,56 mg%; Komplementtiter: in 0,15 ml Serum kein Komplement nachweisbar.
27. 1. 56: Hb.: 87%; Erythrocyten: 3,58 Mill.; F. I.: 1,2; Retikulocyten: ·/.; Bilirubin i. S. 2,1 mg%; Komplementtiter: in 0,15 ml Serum kein Komplement nachweisbar.

2. Pat. H. E., 20 J.
Anamn.: 6 Wochen nach Geburt wurde eine schwere Anämie festgestellt, 1944 schwerer Ikterus, Hb. damals 18%. Pat. erhielt 11 Bluttransfusionen, dann erfolgte die Milzexstirpation. Daraufhin zunächst Besserung, der Zustand ist in den folgenden Jahren wechselnd.
Status (4. 8. 54): Deutlicher Ikterus der Haut, der Schleimhäute und der Konjunktiven, Leber 2 Querfinger verbreitert, Turmschädel, Debilität, Zustand 10 Jahre nach Milzexstirpation.
Diagnose: angeborener macrocytärer hämolytischer Ikterus.
Befunde (bei Nachuntersuchung): Hb.: 44%; Erythrocyten: 1,53 Mill.; F. I.: 1,4; Retikulocyten: 264‰; mittlerer Erythrocytendurchmesser: 9,44 my. (Makrocytose); BSR: 4/6; Bilirubin im Serum: 2,9 mg%, direkt negativ.
Urin: Urobilinogen normal, Urobilin u. Bilirubin negativ.
Röntgenuntersuchung: Turm- und Bürstenschädel, Kalotte erheblich verdickt, Knochenstruktur netzartig; Extremitätenknochen: dünne, reduzierte Corticalis, Osteoporose.
Serologisch: Coombs-Test, Kälte- und Autoagglutination: negativ.
Komplementtiter: 0,036 ml.
Therapie: z. Zt. wird keine Therapie durchgeführt.

3. Pat. L. K., 47 J.
Anamn.: Mit 47 J. erstmalig deutlicher Ikterus und Anämie.
Status: Starker Ikterus, Milz 3 Querfinger unterhalb des Rippenbogens tastbar, Leber 2—3 Querfinger vergrößert. Sonst o. B.
Befunde (15. 4. 55): Hb 56%; Erythrocyten: 2,57 Mill.; F. I.: 1,1; Retikulocyten: 260‰; mittlerer Erythrocytendurchmesser: 6,95 my (Mikrocytose), BSR: 20/44; Bilirubin i. S.: 2,51 mg%; direkt negativ.
Urin: Urobilinogen vermehrt, Urobilin und Bilirubin negativ.
Röntgenuntersuchung der Knochen: o. B.
Serologisch: Coombs-Test, Kälte- und Autoagglutination: negativ.
Komplementtiter: 0,098 ml (s. a. Abb. 5).
Therapie: keine medikamentöse Therapie.

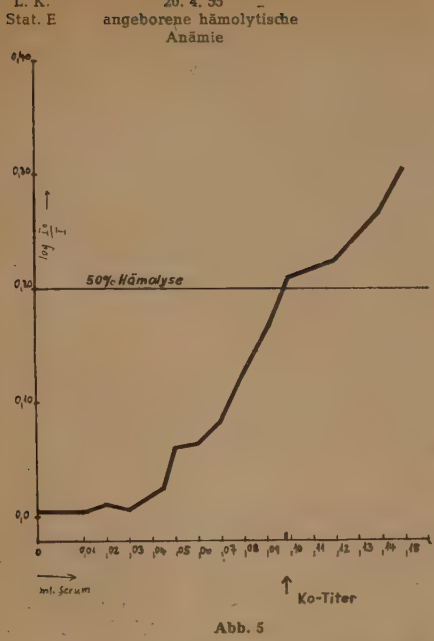

Abb. 5

Weiterer Verlauf: 22. 4.: Zustand im wesentlichen unverändert. Komplementtiter: 0,090 ml.

Splenektomie am 5. 5. 55.

Befunde am 1. 6. 55.: Hb.: 80%; Erythrocyten: 3,75 Mill. F. I.: 1,0; Retikulocyten: 12‰; Bilirubin i. S.: 0,55 mg%; Komplementtiter: 0,115 ml.

20. 1. 56: Hb.: 80%; Erythrocyten: 4,29 Mill.; F. I.: 0,93; Retikulocyten: 7‰; Bilirubin i. S.: 0,39 mg%; Komplementtiter: 0,035 ml.

e) Versuche mit Seren von Patienten mit hämolytischer Anämie

Erworbene idiopathische Formen

1. Pat. F. F., 48 J.

Anamn.: 1954 Schmerzen im re. Oberbauch, allmählich einsetzender Ikterus, Hb. bis auf 19% abgesunken. Besserung nach mehreren Bluttransfusionen. Im folgenden Jahr erneuter Schub, Hb. diesmal auf 43% abgefallen.

Status: Haut und sichtbare Schleimhäute ikterisch verfärbt. Leber steht am Rippenbogen, die Milz ist $1^1/_2$ Querfinger unterhalb der Rippen tastbar.

Diagnose: erworbene idiopathische hämolytische Anämie. Befunde (20. 7. 55): Hb.: 45%; Erythrocyten: 1,74 Mill.; F. I.: 1,3; Retikulocyten: 811‰; mittlerer Erythrocytendurchmes-

ser: 8,147 my. (Makrocytose); BSR: 132/142; Bilirubin i. S.: 3,45 mg%, direkt negativ.

Urin: Urobilinogen normal, Urobilin und Bilirubin: negativ. Serologisch: Coombs-Test: positiv; Kälteagglutination bis 1 : 128 positiv; Autoagglutination: negativ; Trypsintest schwach positiv.

Therapie: Vor der Operation wird die Pat. mit 3200 E ACTH, 960 mg Depot-ACTH u. 550 mg Decortin behandelt. Sie erhält außerdem 4× 250 ml Blut.

Komplementtiter (20. 7.): 0,093 ml (vor Behandlung); (27. 7.): 0,105 ml (vor Behandlung); (3. 8.): 0,042 ml (während Behandlung); (2. 9.): 0,053 ml (während Behandlung) (s. Abb. 6).

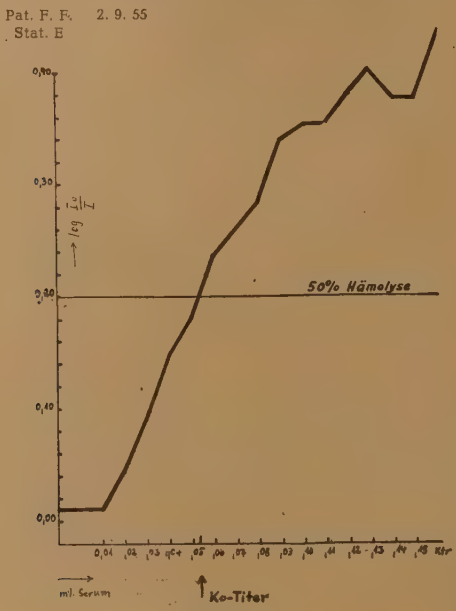

Abb. 6

Die Exstirpation der Milz erfolgte am 21. 9. 55.

Befunde bei der Operation: Hb.: 59%; Erythrocyten: 2,2 Mill.; F. I.: 1,34; Retikulocyten: 250‰; Bilirubin i. S.: 3,57 mg%. Komplementtiter: des Blutes der Milzarterie: 0,053 ml.; des Blutes der Milzvene: 0,093 ml

am 4. 11.: Hb.: 80%; Erythrocyten: 4,4 Mill.; F. I.: 0,9; Retikulocyten: 26‰; Bilirubin i. S.: 0,47 mg%; Komplementtiter: 0,035 ml

am 11. 11.: Hb.: 77%; Erythrocyten: 4,03 Mill.; Retikulocyten: 66‰; Bilirubin i. S.: 1,22 mg%; Komplementtiter: 0,025 ml

am 2. 3. 56: Hb.: 90%; Erythrocyten: 3,95 Mill.; F. I.: 1,1; Retikulocyten: 19‰; Bilirubin i. S.: 0,49 mg%; Komplementtiter: 0,020 ml

2. Pat. F. Ch., 42 J. (ambulante Untersuchung)

Status: Ikterus der Haut und sichtbaren Schleimhäute, Milz und Leber deutlich unterhalb des Rippenbogens palpabel.

Diagnose: erworbene, idiopathische hämolytische Anämie.

Befunde (10. 10. 55): Coombs-Test direkt positiv, Kälteagglutination 1 : 8 positiv; Autoagglutination negativ. Komplementtiter: 0,093 ml

Therapie: bisher keine medikamentöse Therapie, Milzexstirpation ist vorgesehen.

3. Pat. G. H., 26 J.

Anamn.: 1947 wurde bei einer Untersuchung ein Hb-Wert von 45% und eine Milzvergrößerung festgestellt. In den Jahren 1948, 1950, 1952, 1953 und 1954 traten neue hämolytische Schübe auf, so daß 1954 die Milz operativ entfernt werden mußte.

Status: Haut- und sichtbare Schleimhäute mäßig durchblutet, kein Ikterus, Leber nicht vergrößert, Zustand nach Milzexstirpation.

Diagnose: erworbene, idiopathische hämolytische Anämie. (2 Jahre nach Milzexstirpation).

Befunde: Hb.: 86%; Erythrocyten: 4,17 Mill.; F. I.: 1,0; Retikulocyten: 5‰; mittlerer Erythrocytendurchmesser: 7,94 my.; BSR.: 17/55; Bilirubin im Serum: 0,49 mg%, direkter Nachweis negativ.

Urin: Urobilinogen: normal, Urobilin und Bilirubin negativ.
Serologisch: Coombs-Test: direkt positiv, indirekt negativ.
Kälte- und Autoagglutination: negativ.
Komplementtiter: 0,022 ml

Therapie: z. Zt. ohne medikamentöse Therapie.

4. Pat. K. M., 50 J.

Anamn.: Ab Mitte 1954 Krankheitsgefühl, Hautfarbe blaßgelb, es wurde eine Anämie diagnostiziert, Pat. erhielt Transfusionen. Anfang 1955 erneut schwere Anämie mit Hb-Werten um 20%. Dabei Auftreten eines Ikterus, Leber handbreit vergrößert, Milz palpabel. Da mit Bluttransfusionen kein Anstieg des Hb-Wertes über 40% zu erreichen war, erfolgt Einweisung.

Status: Haut, Schleimhäute und Konjunktion ikterisch. Leber steht am Rippenbogen, Milz 2 Querfinger vergrößert.

Diagnose: erworbene idiopathische hämolytische Anämie.

Befunde (17. 5. 55): Hb.: 53%; Erythrocyten: 2,09 Mill.; F. I.: 1,2; Retikulocyten: 356‰; mittlerer Erythrocytendurchmesser 6,983 my.; BSR: 43/87; Bilirubin i. S.: 3,62 mg%, direkt negativ.

Urin: Urobilinogen vermehrt, Urobilin und Bilirubin negativ.
Serologisch: Coombs-Test: direkt positiv, indirekt negativ.
Kälteagglutination: 1 : 64 positiv; Autoagglutination: negativ.
Trypsin-Test: schwach positiv.
Komplementtiter: 0,062 ml

Therapie: bis zur Milzexstirpation insgesamt 5400 E. ACTH (verteilt auf tägliche Dosen von 75 E.—100 E.).
Splenektomie am 22. 7. 55.
Befunde (23. 7. 55): Hb.: 54%; Erythrocyten: 2,53 Mill.; F. I.: 1,05; Retikulocyten: 276‰; Bilirubin i. S.: 2,9 mg%; Komplementtiter: 0,078 ml. Coombs-Test: direkt positiv.
27. 1. 56: Hb.: 77%; Erythrocyten: 3,88 Mill.; F. I.: 1,00; Retikulocyten: 5‰; Bilirubin i. S.: 0,35 mg%; Komplementtiter: 0,076 ml
Serologisch: Coombs-Test: direkt positiv.
Therapie: z. Zt. keine medikamentöse Therapie.

5. Pat.: W. M., 42 J.

Anamn.: 1952 erstmalig Gelbfärbung der Haut, Anämie von 25% Hb. 1953 erneuter Schub, so daß im Juni des gleichen Jahres die Splenektomie vorgenommen wird.
Status: Leichte Blässe der Haut, Leber etwas vergrößert.
Diagnose: erworbene, idiopathische hämolytische Anämie. (Zustand 2½ Jahre nach Milzstirpation).
Befunde (20. 1. 56): Hb.: 84%; Erythrocyten: 4,1 Mill.; F. I.: 1,0; Retikulocyten: 6‰; Bilirubin i. S.: 1,13 mg%.
Urin: Urobilinogen normal, Urobilin und Bilirubin negativ.
Serologisch: Coombs-Test: jetzt negativ, Kälteagglutination 1 : 16 positiv, Autoagglutination negativ.
Komplementtiter: 0,046 ml
Therapie: z. Zt. keine medikamentöse Therapie.
f) Versuche mit Seren von Patienten mit hämolytischer Anämie

Erworbene symptomatische Formen

1. Pat. Sch. S., 51 J.

Anamn.: 1950 trat nach einer Erkältungskrankheit Schmerz in der rechten unteren Thoraxseite auf. Es bestanden zunächst Temperaturen, der Pat. wurde mit Antibioticis behandelt. Da die Schmerzen später nicht zurückgingen, wurde der Pat. eingewiesen.
Status: Leber bis 3 Querfinger vergrößert, von derber großhöckeriger Konsistenz. Milz 2 Querfinger unter dem Rippenbogen palpabel.
Diagnose: Schubweise verlaufende, erworbene symptomatische hämolytische Anämie bei Leberdystrophie und Splenomegalie.
Befunde (22. 4. 55): Hb.: 38%; Erythrocyten: 1,73 Mill.; F. I.: 1,1; Retikulocyten: 119‰; mittlerer Erytrocytendurchmesser: 8,114 my; BSR.: 60/110; Bilirubin i. S.: 2,65 mg% direkt: negativ.
Urin: Urobilinogen: normal, Urobilin und Bilirubin negativ.
Serologisch: Coombs-Test: direkt negativ, indirekt positiv. Kälteagglutination: 1 : 64 positiv; Autoagglutination: negativ. Biphasische Kältehämolysine: negativ, monophasische Kältehämolysine negativ; Komplementtiter: 0,088 ml.

2. Pat. S. A., 6 J.

Anamn.: Seit 2 Jahren bemerkten die Eltern des Kindes, daß nach Unterkühlung eine auffällige Dunkelfärbung des Urins auftrat. Dabei fühlte sich das Kind ausgesprochen schlecht. Nach Erwärmung des Kindes besserte sich sein Zustand und der Urin wurde wieder hell.

Status: Gesichtsfarbe etwas gelblich, sichtbare Schleimhäute schlecht durchblutet, Leber und Milz nicht palpabel.
Diagnose: erworbene symptomatische hämolytische Anämie bei gleichzeitigem Bestehen einer Kältehämoglobinurie.
Befunde (1. 11. 55): Hb.: 68%; Erythrocyten: 3,62 Mill.; F. I.: 0,94; Retikulocyten: 12‰; BSR.: 70/80; Bilirubin i. S.: 0,55 mg%, direkter Nachweis negativ.
Urin: Urobilinogen normal, Urobilin und Bilirubin negativ.
Serologisch: Coombs-Test direkt positiv, Kälteagglutination 1 : 16 positiv, Autoagglutination: negativ.
Biphasische Kältehämolysine: positiv, monophasische Kältehämolysine **positiv.**
Wa.-R.: +++ positiv, MKR II: stark positiv, Citochol-Reaktion: stark positiv.
Komplementtiter: 0,073 ml.

G. Diskussion der Ergebnisse

Überraschenderweise besteht bei den angeborenen Formen der hämolytischen Anämien eine Verminderung des Komplementes. Da bei dieser Krankheit weder inkomplette noch komplette Antikörper nachweisbar sind, kann hier kein Komplement durch Antigen-Antikörper-Reaktionen verbraucht werden. Auch um eine Komplementbildungsschwäche dürfte es sich nicht handeln, da die Komplementmenge nach Splenektomie auf normale Werte ansteigen kann. Als weitere Möglichkeit wäre denkbar, daß eine Depression der Komplementbildung durch die vergrößerte Milz auftritt. Ferner besteht die Möglichkeit, daß Komplement beim Abbau von Erythrocyten verbraucht wird. Fischer, Fritzsche u. Argenton konnten nachweisen, daß zur Lyse von (normalen) Erythrocyten in ihrem eigenen Serum die Anwesenheit von C'1—C'4, Properdin und Magnesiumionen erforderlich sind. Da bei den angeborenen hämolytischen Anämien das Wesen der Krankheit durch einen Erythrocytendefekt bedingt ist, und Erythrocyten in vermehrtem Maße zugrunde gehen, könnte dadurch ein Anlaß für die Verminderung des Komplementes gegeben sein.
Auch bei den Patienten mit erworbenen (idiopathischen oder symptomatischen) hämolytischen Anämien besteht eine deutliche Verminderung des Serumkomplementes. Durch Behandlung mit ACTH oder Cortison konnte erreicht werden, daß das Serumkomplement anstieg. Hierbei dürfte es sich offensichtlich um die Unterbindung von Antigen-Antikörper-Reaktionen handeln. Es ist daher anzunehmen, daß inkomplette Wärmeautoantikörper zur Entfaltung ihrer Wirkung Komplement benötigen. Nach Splenektomie kommt es bei diesen Patienten ebenfalls zu einer mehr oder weniger lang andauernden Normalisierung des Komplementtiters.
Da die Zerstörung der Erythrocyten in der Milz vonstatten geht, liegt der Schluß nahe, daß die defekten Erythrocyten bei den angeborenen Formen der hämolytischen Anämie dort unter Zuhilfenahme von Komplement aufgelöst werden. Bei den erworbenen hämolytischen Anämien geht wahr-

scheinlich ebenfalls ein wesentlicher Teil der mit Antikörpern beladenen Erythrocyten in der Milz zugrunde. Die Behandlung mit ACTH oder Cortison läßt somit das Komplement ansteigen, während die Milzexstirpation den Ort der Zerstörung der Erythrocyten beseitigt, was sich ebenfalls in einem Ansteigen des Komplementtiters bemerkbar macht.

In einem Fall gelang es, den Komplementschwund in der Milz durch Untersuchung des arteriellen und des venösen Milzblutes nachzuweisen.

Zusammenfassung:

1. Die von Hoene u. Sabel sowie die von Perlick u. Tost angegebene Methode der Komplementbestimmung in menschlichen Seren wurde überarbeitet. Die Menge der als Indikator verwendeten Hammelerythrocyten wurde vermindert, die Ablesung erfolgte elektrokolorimetrisch.

2. Die mit dieser Methode ermittelte Durchschnittsmenge von Komplement lag zwischen 0,02 und 0,035 ml Serum.

3. Ein erhöhter Bilirubingehalt des Serums beeinflußt nicht die nachweisbare Komplementmenge.

4. Der Komplementgehalt des Serums bei Patienten mit Eisenmangelanämien entspricht dem der Normalseren.

5. Bei Patienten mit angeborener hämolytischer Anämie ist der Komplementgehalt vermindert. Nach Splenektomie normalisierte er sich in 2 Fällen, ein dritter Fall zeigte keine Änderung.

6. Bei Patienten mit erworbener hämolytischer Anämie ist der Komplementgehalt des Serums ebenfalls vermindert. Auch hier tritt eine Normalisierung der Komplementmenge nach der Splenektomie ein. Ein Anstieg des Komplementgehaltes auf die Norm kann oft durch die Verabfolgung von ACTH und Cortison erreicht werden.

7. Die Ursachen für den Komplementschwund bei den unter 5. und 6. aufgeführten Erkrankungen werden diskutiert.

Literatur:

1. Bauer, R. u. Weiss, I.: Med. Klin. 44, 1635, 1930. — 2. Bergel, A. u. Schüle, F.: Wien. klin. Wschr. II, 1562, 1931. — 3. Boorman, K. E., Dodd, B. E. u. Loutit, J. F.: Lancet, 1946, I, 812. — 4. Bordet, J.: Ann. Inst. Pasteur 14, 257, 1900. — 5. Braunsteiner, H., Reimer, E. E. u. Speiser, P.: Wien. Ztschr. inn. Med. 32, 157, 1951. — 6. Brooks, S. C.: J. med. Research 41, 399, 1920. — 7. Brüggemann, W. u. Hahn, F.: Ärztl. Wschr. 4, 403, 1949. — 8. Buchner, H.: Zbl. Bakt. I, 5, 817, 1889. — 9. Buchner, H.: Zbl. Bakt. I, 6, 1, 1889. — 10. Buchner, H.: Münch. Med. Wschr. 39, 119, 1892. — 11. Buchner, H.: Münch. Med. Wschr. 41, 469, 497, 589 u. 717, 1894. — 12. Buchner, H.: Münch. Med. Wschr. 44, 1320, 1897. — 13. Buchner, H.: Münch. Med. Wschr. 47, 277 u. 1193, 1900. — 14. Buchner, H.: Berl. klin. Wschr. 38, 854, 1901. — 15. Buchner, H.: Arch. Hyg. 10, 84, 1890. — 16. Buchner, H.: Arch. Hyg 17, 112, 1893. — 17. Büsing, K. H. u. Zuzak, H.: Z. Immunit.fschg. 102, 401, 1943. — 18. Burbank, R. u. Hadjopoulos, G.: J. labor. a. clin. Med. 14, 2, 131, (zit. n. 120). — 19. Cavelti, P. A. u. Ca-

velti, E. S.: J. Immunol. 49, 365, 1944. — 20. Coca, A. F.: Z. Immunit.fschg. 20, 622, 1914. — 21. Dacie, J. V.: Lancet, 1951, II, 954. — 21a. Dacie, J. V. u. De Gruchy: J. clin. Path. 4, 253 (1951). — 22. Dacie, J. V.: The hemolytic anaemias, Verlag Churchill, London, 1954. — 23. Damashek, W., Rosenthal, M. C. u. Schwartz, L. I.: New Engld. J. Med. 244, 117, 1951. — 24. Doerr, R.: Die Immunitätsforschung Bd. II, Springer Verlag, Wien, 1947. — 25. Dungern, v.: Münch. Med. Wschr. 46, 405 u. 449, 1899. — 26. Dungern, v.: Münch. Med. Wschr. 47, 677 u. 962, 1900. — 27. Dungern, v. u. Coca, A. F.: Münch. Med. Wschr. 54, 2317, 1907. — 28. Ecker, E. E., Pillemer, L., Wertheimer u. Gradis: J. Immunol. 34, 19, 1938. — 29. Ecker, E. E., Pillemer, L., Jones u. Seifter: J. biol. Chem. 135, 347, 1940. — 30. Ecker, E. E. u. Reese, H. M.: J. inf. Dis. 31, 361, 1922. — 31. Ehrlich, P.: Charité Annalen 10, 142, 1885. — 32. Ehrlich, P.: Münch. Med. Wschr. 47, 1193, 1900. — 33. Ehrlich, P. u. Morgenroth, J.: Berl. klin. Wschr. 36, 6 u. 481, 1899. — 34. Ehrlich, P. u. Morgenroth, J.: Berl. klin. Wschr. 37, 453 u. 681, 1900. — 35. Ehrlich, P. u. Morgenroth, J.: Berl. klin. Wschr. 38, 251, 569 u. 598, 1901. — 36. Ehrlich, P. u. Sachs, H.: Berl. klin. Wschr. 39, 492, 1902. — 37. Emmrich, R. u. Petzold, H.: Klin. Wschr. 30, 488, 1952. — 38. Esche, P. v. d.: Z. Immunit.fschg. 95, 44, 1939. — 39. Evans, R. S., Takahashi, R., Duane, R. T., Payne, R. u. Liu Chi-Kong: Arch. int. Med. 87, 48, 1951. — 39a. Fischer, H., Fritzsche, W. u. Argenton, H.: Klin. Wschr. 36, 411, 1958. — 40. Frick, E.: Klin. Wschr. 30, 193, 1952. — 41. Friedberger, E. u. Hartoch, O.: Z. Immunit.fschg. 3, 581, 1909. — 42. Gard, S. u. Euler, H. v.: Acta med. scand. 75, 440, 1931. — 43. Gernand, K. u. Schabinski, G.: Dtsch. med. Wschr. 82, 1372, 1957. — 44. Goldner, M.: Dtsch. med. Wschr. 55, 390, 1929. — 45. Gruber, M.: Münch. Med. Wschr. 48, 1827, 1880, 1924 u. 1965, 1901. — 46. Heilmeyer, L.: Medizinische Spektrophotometrie, Fischer Verlag, Jena 1933. — 47. Heilmeyer, L.: Dtsch. Arch. klin. Med. 179, 292, 1936. — 48. Heilmeyer, L. u. Begemann, H.: Handbuch der Inneren Medizin, Bd. 2, Springer Verlag, Berlin, 1951. — 49. Heidelberger, M.: J. exp. Med. 73, 681, 1941. — 50. Heim, L.: Münch. Med. Wschr. 48, 700, 1901. — 51. Hemmerle: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 1952. — 52. Hench, P. S.: Intern. Conf. Rheumat. Diseases 1938 (zitiert n. Perlick u. Tost). 53a. Hennemann, H. H.: Erworbene hämolytische Anämien, VEB G. Thieme, Leipzig, 1957. — 53b. Hennemann, H. H.: Folia haematologica 73, 236, 1955. — 53c. Hennemann, H. H. u. Schulze, K.-H.: Ztschr. f. klin. Med. 155, 237, 1958. — 54. Hennemann, H. H., Falck, I. u. Gillert, K. E.: Ztschr. ges. Inn. Med. 8, 321, 1953. — 55. Hennemann, H. H. u. Gillert, K. E.: Klin. Wschr. 31, 444, 1953. — 56. Hennemann, H. H., Möller, H. u. Gillert, K. E.: Klin. Wschr. 30, 809, 1952. 57. Herbert: J. Biochem. 35, 1116, 1941. — 58. Hirscher, H.: Dtsch. Ges. wes. 5, 814, 1950. — 59. Hoene, R.: Schweiz. med. Wschr. 82, 327, 1952. — 60. Hoene, R. u. Sabel, G.: Ztschr. ges. Inn. Med. 7, 389, 1952. — 61. Huntemüller, O.: Zbl. Bakt. 110, S. 150°, 1929. — 62. Huntemüller, O.: Münch. med. Wschr. 76, 490, 1929. — 63. Huntemüller, O.: Strahlentherapie 35, 489, 1930. — 64. Huntemüller, O.: Med. Klin. 26, 1293, 1930. — 65. Jordan, F. L. J.: Acta med. scand. 111, 372, 1942. — 65a. Jordan, E. L. J.: Acta med. scand. 144, 268, 1953. — 66. Kalk, H.: Dtsch. med. Wschr. 72, 308, 1947. — 67. Kalk, H. u. Wildhirt, E.: Med. Klin. 50, 1289, 1955. — 68. Kalk, H. u. Wildhirt, E.: Ztschr. klin. Med. 153, 354, 1955. — 69. Kellet, C. E.: Lancet, 1936, II, 1262. — 70. Kellet, C. E., Thomsen u. Greig, J.: J. Path. 49, 519, 1939. — 71. Kent, J. F., Bukantz, S. C. u. Rein, C. R.: J. Immunol. 53, 37, 1946. — 72. Kiss, J.: Ztschr. Immunit.fschg. 3, 558, 1909. — 73. Kjellberg, K.: Kinderärztl. Praxis 12, 296, 1941. — 74. Kodicek, E. u. Traub, B.: Biochem. J. 37, 456, 1943. — 75. Koopman, J. u. Falker D.: J. labor. a. clinic. Med. 21, 308, 1935. — 76. Kraulis, W.: Klin. Wschr. 15, 1065, 1936. — 77. Letterer: Zit. nach Perlick u. Tost (97). — 77a. Loghem, v. J. J., Mendes de Leon, D. E. Fren-

kel-Tietz, H. u. Hart, v. d. M.: Blood, 7, 1196, 1952. — 78 Loutit, J. F. u. Mollison, P. L.: J. Path. a. Bact. 58, 711, 1946. — 79. Ludany, G. v. u. Berta, L.: Z. exper. Med. 108, 227, 1940. — 80. Malkin: Ztschr. immunit.fschg. 46, 194, 1926. — 81. Mandelbaum, M.: Münch. med. Wschr. 63, 1038, 1916. — 82. Mandelbaum, M.: Münch. med. Wschr. 64, 277, 1917. — 83. Mandelbaum, M.: Berl. klin. Wschr. 57, 285, 1920. — 84. Markl: Ztschr. Hyg. 39, 86, 1902. — 85. Marsh, F.: Nature 137, 618, 1936. — 86. Meerseman: C. r. Soc. Biol. 124, 767, 1937. — 87. Morison, J. F.: J. Immunol. 7, 435, 1922. — 88. Moro, E.: Münch. med. Wschr. 54, 1517, 1907. — 89. Moro, E. u. Potpeschnigg: Wien. med. Wschr. 1, 1908 (Zit. n. 60). — 90. Moxter: Zbl. Bakt. I. 26, 344, 1899. — 91. Mutermilch: Ann. Inst. Pasteur 38, 1002, 1924. — 92. Neisser, M.: Dtsch. med. Wschr. 26, 790, 1900. — 93. Neisser, E. u. Doehring, H.: Berl. klin. Wschr. 38, 593, 1901. — 94. Neisser, M. u. Wechsberg, F.: Münch. med. Wschr. 48, 697, 1901. — 95. Pels-Leusden, F.: Zbl. Bakt. I. 155, 391*, 1950. — 96. Perlick, E. u. Goetze, J.: Ärztl. Forschg. 8, 158, 1954. — 97. Perlick, E. u. Tost, M.: Dtsch. Arch. klin. Med. 200, 616, 1953. — 98. Pfeiffer, E. F. u. Bruch, H. E.: Dtsch. Arch. klin. Med. 199, 613, 1952. — 99. Pillemer, L., Blum, L., Lepow, J. H., Ross, O. A., Todd, E. W. u. Wardlaw, A. C.: Science 120, 279, 1954. — 100. Pillemer, L., Schoenberg, M. D., Blum, L. u. Wurz, L.: Science 122, 545, 1955. — 101. Pinner, M.: Beitr. z. Klin. d. Tuberk. 46, 471, 1921. — 102. Ratschow, M.: Die peripheren Durchblutungsstörungen, Verlag Th. Steinkopff, Dresden u. Leipzig 1949. — 102a. Raeder, R.: Aust. Ann. Med. 4, 279, 1955. — 103. Riva, G.: Schweiz. med. Wschr. 76, 617, 1946. — 104. Rockwood, R.: Kongr. Zbl. 43, 335, 1926. — 105. Rosenfield, R. E., Vogel, P. u. Rosenthal, N.: Am. J. clin. Path. 21, 301, 1951. — 106. Rosenthal, M. C., Spaet, T. H., Goldenberg, H. u. Damashek, W.: Lancet 1952, I, 1135. — 107. Sachs, H.: Jahresber. exp. Med. 1912. — 108. Sachs, H.: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen II, 2, 784, 1929. — 109. Schmidt, H.: Fortschritte der Serologie, Verlag D. Steinkopff, Darmstadt, 1955. — 110. Schnabel, P.: Med. Klin. 29, 714, 1933. — 111. Schönheimer, R., Ratner, S. u. Rittenberg, D.: J. biol. Chem. 130, 703, 1939. — 112. Schönheimer, R., Ratner, S., Rittenberg, D. u. Heidelberger, M.: J. biol. Chem. 144, 541, 1942. — 113. Schuchhardt, E.: Ztschr. Immunit.fschg. 97, 1, 1940. — 114. Stacey: Am. J. med. Science 212, 586, 1946. — 114a. Stejskal, R. v. K.: Wien. klin. Wschr. 1939, II, 734. — 115. Thomson, Arnott u. Metthew: Lancet, 1939, II, 734. — 116. Tischendorf, W., Frank, A. u. Punin, W.: Klin. Wschr. 26, 262, 1948. — 117. Traub, R.: J. path. a. bact. 55, 447, 1943. — 118. Trommsdorf: Arch. f. Hyg. 59, 1, 1906. — 119. Tzank, A. u. Dausset, J.: Sem. Hôp. Par. 28, 793, 1952. — 120. Veil, W. H.: Klin. Wschr. 12, 1713 u. 1753, 1933. — 121. Veil, W. H. u. Buchholz, B.: Klin. Wschr. 11, 2019, 1932. — 122. Voit, K. u. Gerstenberg, H. W.: Klin. Wschr. 26, 177, 1948. — 122a. Wasastjerna, C.: Blood 8, 1042, 1953. — 123. Wassermann: Ztschr. Hyg. 51, 461, 1906. — 124. Wassermann: J. Immunol. 40, 281, 1940. — 124a. Weinreich, J.: Folia häm. (Neue Folge) 1, 1956, 1. — 125. Weiss, St., Sümegi, St. u. Bonkovics, Z.: Ztschr. ges. exp. Med. 60, 697, 1928. — 126. Wright: Zitiert nach Huntemüller (64). — 127. Wright, C., Dodd, M. C., Bouroncle, B. A., Doan, Ch. A. u. Zollinger, R. M.: J. labor. a. clin. Med. 37, 165, 1951. — 128. Young, L. E., Miller, G. u. Christian, R. M.: Ann. int. Med. 35, 507, 1951. — 129. Young, L. E. u. Miller, G.: Amer. J. Sci. 226, 664, 1953.

Sonderdruck aus der Zeitschrift „Berliner Medizin"
11. Jahrgang 1960, Seite 251—259

Für die freundliche Überlassung des Themas sowie für die mir bei der Ausführung der Versuche zuteil gewordene Unterstützung bin ich Herrn Prof. Dr. med. H. H. Hennemann, ehem. kommissarischer Direktor der I. Medizinischen Universitätsklinik der Charité, jetzt Oberarzt an der Medizinischen Klinik der Städtischen Krankenanstalten Köln-Merheim, zu tiefem Dank verpflichtet.

Desgleichen gilt mein Dank Herrn Professor Dr. med. F. Trautmann für die Übernahme der Arbeit nach dem Weggang von Herrn Prof. Dr. Hennemann und die mir bei der Fertigstellung der Arbeit jederzeit freundlichst erteilten Ratschläge.

Lebenslauf

Am 16. Juli 1926 wurde ich, Karl-Hans Schulze, als Sohn des Lagerverwalters Paul Schulze und seiner Ehefrau Hedwig, geb. Pietzuch, in Berlin geboren.

Von Mai 1933 bis Ostern 1937 besuchte ich in Berlin die Grundschule, anschließend bis zum 31. 10. 1944 die Kirschner-Oberschule. 1943 wurde ich mit meiner Klasse zum Luftwaffenhelfer-Einsatz eingezogen. Danach war ich bis Kriegsende dienstverpflichtet. Nach Kriegsende nahm ich an einem Sonderlehrgang zur nachträglichen Erlangung der Reifeprüfung teil und legte am 27. 3. 1947 am Charlottenburger Gymnasium das Abitur ab.

Am 10. 11. 1948 wurde ich an der Medizinischen Fakultät der Humboldt-Universität immatrikuliert und studierte dort 9 Semester. Nachdem ich am 4. 11. 1952 als West-Berliner von der Humboldt-Universität exmatrikuliert wurde, setzte ich mein Studium an der Freien Universität fort, wo ich am 15. 10. 1954 das Medizinische Staatsexamen mit dem Urteil „gut" bestand.

Vor und während meines Studiums habe ich von 1945—1951 am Hygienischen Institut der Humboldt-Universität als Praktikant und von 1952 bis 1955 als wissenschaftlicher Hilfsassistent im bakteriologisch-serologischen Labor der I. Medizinischen Klinik der Charité gearbeitet. An dieser Klinik absolvierte ich auch bis zum 1. 5. 1956 meine Pflichtassistentenzeit, anschließend war ich dort bis zum 15. 3. 1957 als Vollassistent tätig. Nach einer kurzen Zwischenbeschäftigung bin ich seit dem 1. 8. 1957 als wissenschaftlicher Assistent im Medizinaluntersuchungsamt Berlin-Charlottenburg angestellt.

Am 20. 3. 1956 habe ich die Assessorin Erika Falck geheiratet. Seitdem führe ich mit Genehmigung des Polizeipräsidenten von Berlin den Familiennamen Schulze-Falck.